KJEE 49(4): 343-353 (2016)
https://doi.org/10.11614/KSL.2016.49.4.343
ISSN: 2288-1115 (Print), 2288-1123 (Online)

Original article

수생 지렁이를 이용한 생태 독성 평가 연구에 대한 고찰

강혜진[1] · 배미정[2] · 박영석[1,3,*]

[1]경희대학교 생물학과, [2]국립낙동강생물자원관 담수생물다양성연구실, [3]경희대학교 나노의약생명과학과

Ecotoxicological Studies Using Aquatic Oligochaetes: Review. *Kang, Hye-jin*[1] (0000-0001-6747-5420), *Mi-Jung Bae*[2] (0000-0003-4286-1119) *and Young-Seuk Park*[1,3,*] (0000-0001-7025-8945) *([1]Department of Biology, Kyung Hee University, Seoul 02447, Republic of Korea; [2]Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju-si, Gyeongsangbuk-do, 37242, Republic of Korea; [3]Department of Life and Nanopharmaceutical Sciences, Kyung Hee University, Seoul 02447, Republic of Korea)*

Abstract Oligochaetes distribute widely in freshwater ecosystem, and some species are used as bioindicators for water quality assessment because they are tolerant to organic enrichment. They are acknowledged for potential for environmental health recovery of organic polluted environment. There are a lot of studies on ecology and toxicity assessment using oligochaetes in aquatic environment. In this study, we reviewed literature on ecotoxicology of aquatic oligochaetes. We searched literature from a database 'google scholar' by using keywords such as aquatic, oligochaete, and toxicity. The literature were summarized according to publication years, species, test methods, and chemicals. We obtained 133 articles published from 1953 to 2015 from the database. Among them, 58 papers (43.6% of total) have been published in 1990s. Three species (*Lumnbriculus variegatus*, *Tubifex tubifex*, and *Limnodrilus hoffmeisteri*) have been used most frequently in the study. Different species displayed different toxicological responses to different toxic chemicals. The results on the ecotoxicological study with aquatic oligochaetes revealed the possibility of the development for early warning system using aquatic oligochaetes to monitor aquatic ecosystem disturbance.

Key words: aquatic oligochaetes, ecotoxicology, biological respons, toxic chemicals, biological monitoring

서 론

담수생태계는 지구 표면의 약 0.8%만을 점유하지만 전체 종의 거의 6%를 포함할 정도로 생물 다양성이 매우 높다(Dudgeon *et al*., 2006). 또한 담수생태계는 수자원 공급, 물의 자정능력, 홍수 감소, 레크리에이션, 낚시 등과 같은 중요한 생태계 서비스를 사회에 제공한다(Postel and Carpenter, 1997). 이러한 중요성에도 불구하고 담수생태계는 기후변화, 관개용수, 화학오염, 물리적인 서식처 파괴, 외래종 정착 등과 같은 인위적인 영향으로 인하여 다른 서식지보다 더 큰 절멸률을 갖는 지구상에 가장 위협받는 생태계 중 하나이다(Ricciardi and Rasmussen, 1999; Dudgeon *et al*., 2006). 이에 담수생태계에 미치는 여러 교란 요인들을 정량화 하고 변화 정도를 감시하기 위한 생물지수, 담수생물의 독성평가, 실시간모니터링시스템 개발 등과 같은 여러 방법들이 다양한 분류군(예, 부착돌말류, 저서무척추동물, 어류)을 이용하여 시도되고 있다. 특히, 저서성대형무척추동물은 담수생태계 내 생산자, 소비자, 분해자를 연

Manuscript received 2 November 2016, revised 24 November 2016, revision accepted 29 November 2016
* Corresponding author: Tel: +82-2-961-0946, Fax: +82-2-961-0244, E-mail: parkys@khu.ac.kr

ⓒ The Korean Society of Limnology. All rights reserved.
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

결하는 먹이사슬 구조에 중요한 역할을 차지하는 생물군으로(Cummins, 1973; Rosenberg and Resh, 1984; Allan and Castillo, 2007), 정주성 생물이며 종에 따라 몇 달에서 수년에 이르는 생활사를 가지고 있기 때문에 통합적이고 지속적인 수질 및 담수생태계 평가에 널리 적용되고 있다(Reynoldson *et al*., 1997).

이 중에서 수생 지렁이류는 굴을 파는 습성(burrowing behavior) 및 지렁이를 이용한 유기성 폐기물 안정화(vermicomposting; 지렁이가 섭식한 유기성 폐기물이 장내를 통과하여 배설되는 동안 충분히 부숙되어 토양 개량제 등과 같은 물질로 전환되는 것, Korea Organic Resource Recycling Association, 1994) 능력을 이용한 유기성 폐기물 처리가 폐기물의 급속한 안정화 및 감량화, 냄새와 해충 발생 억제, 병원성 세균의 감소에 장점을 가지고 있다(Loehr, 1984). 미국과 유럽 등지에서는 특히 유기물 오염이 심한 담수생태계 내의 건강성 회복에 높은 잠재성을 인정하여 실지렁이의 분포 및 서식처 선호도(Syrovátka *et al*., 2009)와 같은 생태연구를 비롯하여 침전물 독성 정도 평가(Dermott and Munawar, 1992; Phipps *et al*., 1993; Ingersoll *et al*., 2003), 오염 물질에 따른 행동 변화(Macedo-Sousa *et al*., 2008), 슬러지 제거능(Elissen *et al*., 2010) 등 다양한 독성 물질에 대한 반응연구가 수행되고 있다.

수생 지렁이는 우리나라에 현재 7과 36종(Park *et al*., 2013)이 보고되어 있다. 국외에서는 생태 독성을 포함한 다양한 분야에서 수생 지렁이를 활용하고 있으나, 국내에서는 몇몇 분류학적 연구(Brinkhurst *et al*., 1994; Yoon *et al*., 2000; Jung *et al*., 2011; Lee and Jung, 2014)와 양어장 배출수 수질정화를 위한 실지렁이의 이용가능성 연구(Choi, 2005; Jun and Park, 2005) 등 제한적으로 연구되었다. 수생 지렁이 중 일부 종은 유기물에 대한 상대적인 내성으로 비교적 오염된 하천에서도 잘 서식하는 등 수질이 좋지 않은 환경의 지표종으로 사용되는 중요한 생물지표이다(Chapman *et al*., 1982a, b; Lin and Yo, 2008). 그러한 성질과 관련하여 수질 평가에 활용될 수 있는 종이므로(Phipps *et al*., 1993; Chapman, 2001) 더욱 생태와 독성에 대한 연구가 중요하다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 국내외에서 수생 지렁이를 이용한 생태 독성 연구 문헌을 검색하고 정리하여 앞으로의 연구에 활용될 수 있도록 하고자 하였다.

방 법

국내외에서 수행된 수생 지렁이를 이용한 생태 독성 연구 문헌을 검색하고 정리하였다. 자료의 신뢰성 확보를 위해 구글 학술검색(http://scholar.google.co.kr, 접근일: 2015.

Table 1. Criteria for document classification and number of papers published on toxicological study with aquatic oligochaetes at different decades.

Variable		Description	Period			
			1970s	1980s	1990s	2000~2015
Exposure media	Water	Freshwater test without sediment	2	11	36	31
	Sediment	Freshwater test with sediment (spiked sediment and clean sediment with toxicants in overlying water)	1	6	21	16
Effects	Lethal	LC[1]	4	17	34	21
	Growth, reproduction	EC[2], IC[3] of growth or reproduction	1	3	10	6
	Motility	Description of motility			5	4
	Enzymic activity	EC, IC of enzymic activity				3
	Bioconcentration	BCF[4], BSAF[5], tissue concentration		4	14	10
	Other nonlethal effects	Sludge index, feeding rate, emission rate, biomass, etc.	1	2	17	10
Treatment materials	Pesticides	Chemicals used for agricultural or commercial purpose (include antifouling agent)	4	12	29	21
	Heavy metals	Relatively dense metal (Specific gravity four or more)	1	9	19	14
	Other substances	Experimental substance except Heavy metals and Pesticides (PAHs[6], ammonia, etc.)	1	7	17	14

[1]LC = lethal concentration, [2]EC = effect concentration, [3]IC = inhibition concentration, [4]BCF = bioconcentration factor, [5]BSAF = biota-sediment accumulation factors, [6]PAHs = Polycyclic aromatic hydrocarbons

03.30)에서 “aquatic, oligochaete, toxicity”를 검색어로 검색되는 모든 학술논문을 확인하였다. 이후, 검색된 결과 중 수생 지렁이를 이용한 독성 연구와 관련된 문헌만을 선택하였다. 그리고 해당 문헌은 출판연도(Publication year), 노출환경(Exposure media), 노출에 따른 효과(Effect), 실험물질(Treatment materials) 등의 항목으로 요약 및 정리하였다(Table 1). 생물종(Species)별로 연구 빈도에 차이가 있는지 확인하기 위해 연구가 많이 수행된 주요 3종(*Tubifex tubifex*, *Lumnbriculus variegatus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*)에 대해 출판된 연구의 수를 따로 기록하였다(Table 2). 노출환경은 문헌에서 진행한 실험의 방법 상에 하상(Sediment)이 있는 경우와 하상 없이 담수로만 진행되는 경우(Water)로 구분하였다. 수체 내에 교란 물질을 직접 주입하는 경우와 이 하상에 주입한 것 모두 포함하였다. 노출에 따른 효과는 치사(Lethal), 생장과 생식(Growth, reproduction), 운동성(Motility), 효소활성(Enzymic activity), 생물 농축(Bioconcentration)을 따로 기재하고, 그 외의 비치사효과(Other nonlethal effects)는 하나로 구분하였다. 치사는 치사농도(Lethal concentration)를 기록한 경우만을 포함하였다. 생장, 생식과 효소활성은 효과 농도(Effect concentration)와 저해 농도(Inhibition concentration)의 경우를 모두 포함하였다. 운동성의 경우 정량화되지 않은 운동성 변화에 대한 기술을 포함하였고, 생물 농축은 농축인자(Concentration factor) 또는 생물 내 잔류량을 측정하는 경우를 포함하였다. 그 외 슬러지분해(Sludge index), 섭식(Feeding rate), 배설(Emission rate) 등에 대한 것은 연구논문 수가 적어 기타 비치사효과로 포함시켰다. 실험물질은 상업적으로 이용되는 목재방부제, 선박페인트-유기인산-를 포함하는 농약(Pesticides), 중금속(Heavy metals), 기타 물질(Other substances)로 나누었다(Table 1). 농약은 화학물질의 계통에 따라 세분화하고 중금속은 금속 원소별로, 기타 물질 중에서도 사용 빈도가 높은 물질은 따로 기록하였다. 하나의 문헌에서 둘 이상의 종 또는 물질을 이용하여 실험한 경우 중복해서 기록하였다.

결과 및 고찰

1. 수생 지렁이 독성 실험 연구경향

수생 지렁이를 이용한 독성 실험 연구는 Stammer (1953)가 황화수소와 암모니아를 이용하여 수행한 실험이 시작이었으며, 2015년 자료검색을 수행한 시점까지 실험 종과 물질, 노출경로, 독성 효과를 확인할 수 있는 조건을 충족하는 총 133편의 문헌이 선택되었다(Table 1). 독성 연구에

Table 2. Number of papers studied on toxicity test using three species *L. variegates*, *T. tubifex*, and *L. hoffmeisteri*.

Variable		*Lumnbriculus variegatus*					*Tubifex tubifex*					*Limnodrilus hoffmeisteri*				
		70s	80s	90s	00~15	Total	70s	80s	90s	00~15	Total	70s	80s	90s	00~15	Total
NO. articles		6	26	30	62		4	10	20	14	48	1	11	5		17
Exposure media	Water	3	16	19	38		1	2	12	11	26		7	4		11
	Sediment	1	12	12	25			3	6	4	13	1	4	1		6
Effects	Lethal	3	12	14	29		4	7	15	10	36		11	2		13
	Growth, reproduction		3	4	7			1	3	4	8		3			3
	Motility			2	2				1	2	3	1		1		2
	Enzymic activity			2	2						0					0
	Bioconcentration	2	10	8	20			2	1	1	4		1	1		2
	Other nonlethal		6	5	11		1	1	4		6		1	2		3
Treatment materials	Pesticides	4	12	17	33		3	5	11	2	21		7	3		10
	Heavy metals	1	7	3	11		1	7	9	10	27		4	1		5
	Other substances	2	10	10	22			2	2	4	8	1	4	1		6

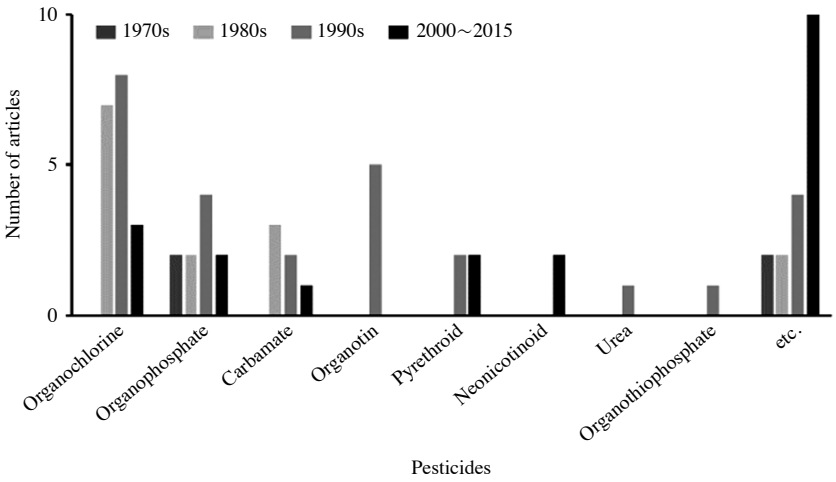

Fig. 1. Number of articles published on different pesticides types at different periods. "etc." includes triazine, aniline, Triazole, and other pesticides.

는 총 11종(*Tubifex tubifex*, *Lumnbriculus variegatus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*, *Branchiura sowerbyi*, *Quistadrilus multisetosus*, *Rhyacodrilus montana*, *Spirosperma ferox*, *Spirosperma nikolskyi*, *Stylodrilus heringianus*, *Varichaeta pacifica*, *Tubifex* sp.)의 수생 지렁이가 사용되었으며, 1990년대에 58건(43.6%)으로 가장 많은 연구가 출판되었다. 또한 실험물질에 따른 수생 지렁이의 반응 연구는 주로 치사 여부를 판단하는 연구가 76건으로 가장 많았으며, 생물농축(28건), 생장 및 생식(20건), 운동성(9건), 효소활성(3건)의 순으로 나타났다. 그 외에 sludge volume index와 같은 비치사 영향을 기록한 연구(Elissen *et al*., 2006)도 있었다. 효소활성의 경우는 2000년 이후부터 연구가 수행되었다. 실험물질의 종류로는 유기인계, 유기염소계, 카르밤산계 등에 속하는 농약이 66건으로 가장 많았고, 중금속 43건, 기타(예, 다환방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs), 암모니아(Ammonia), 폴리염화바이페닐(Polychlorinated Biphenyls, PCBs), 선형알킬벤젠술폰산(Linear alkylbenzen sulfonate, LAS) 등)가 39건이었다(Table 1).

농약의 경우 총 13종류가 연구에 사용되었으며, 유기염소계가 18건으로 가장 많았고, 유기인계(11건), 카르밤산계(7건), 유기주석계(5건) 등의 순으로 많았다(Fig. 1). 유기염소계 농약의 경우 1980년대부터 1990년대까지의 연구가 눈에 띄게 많았다. 1990년대 후반 EPA의 농약 규제(The Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA)) (US EPA, 2016)가 2000년 이후의 연구 감소로 이어졌을 것이다. 1990년대에 유기주석계 농약의 실험 빈도가 높은 것은 유기주석계 방오페인트(antifouling paint)의 독성이 80년대 후반에 알려졌기 때문일 것이다. 2000년 이후에는 농약 분류 중 기타에 속한 비율이 급증한 것으로 나타나는데, 이는 기존에 많이 연구된 물질의 계통에 속하지 않는 아닐린계(트리플란), 트리아졸, 트리아진계(아트라진) 등 다양한 종류의 농약이 실험에 이용되었기 때문이다.

중금속의 경우 카드뮴계, 구리계, 아연계 등 16가지가 사용되었으며, 그중 카드뮴계가 29건으로 가장 많았고, 구리계(20건), 아연(14건), 납(10) 등의 순이었다(Fig. 2). 구리는 2000년 이후의 논문이 가장 많았으며, 구리를 제외한 중금속은 대부분 1990년대의 연구 결과가 많았다. 중금속의 독성을 실험한 논문 중에서는 카드뮴, 수은, 납, 아연, 구리, 크롬 등 빈도가 높은 물질들 중 2가지 이상을 함께 실험한 논문이 다수 기록되었다.

중금속과 농약 이외에 17종류의 기타 물질도 독성 실험에 사용되었다. 그중 PAHs가 14건으로 가장 많았고, 암모니아 6건, PCBs 5건의 순으로 나타났다(Fig. 3). 기타 물질 중 PAHs와 PCBs는 90년대부터 연구가 진행된 점이 특징적이었다. 이는 PAH의 발암, 심혈관계 질환과 관련한 독성과(Boström *et al*., 2002) PCB의 독성(Aoki, 2001)이 90년대 후반부터 주목받은 점을 반영하는 것으로 생각된다.

2. 주요 종별 독성 물질 반응

1) *Lumbriculus variegates*

*L. variegates*를 이용하여 총 62건의 독성 연구가 수행되었다(Table 2). 실험수조 등 수체 내에 독성 물질을 직접 주입하는 실험(38건)이 하상에 주입한 것(25건)보다 많았다. 물질 주입 후 실험 종의 반응 연구로는 치사가 29건으로 가장 많았으며, 생물 농축 20건, 생장 및 생식 7건, 효소활

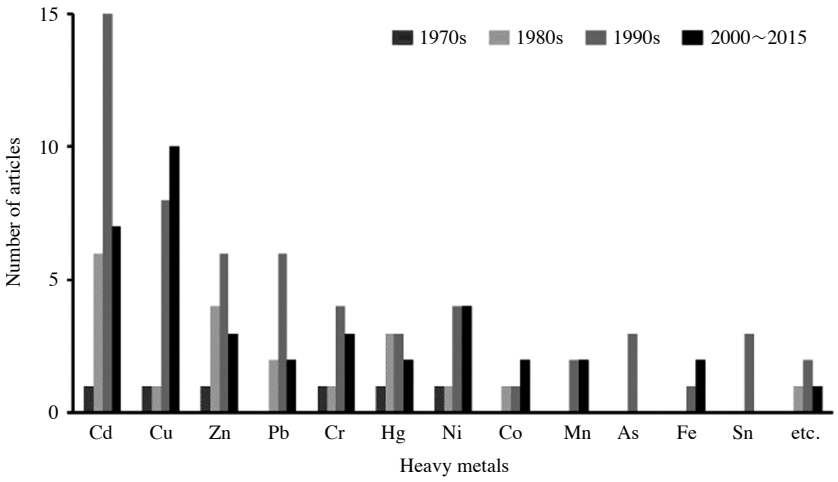

Fig. 2. Number of articles published on different heavy metals at different periods. (Cd: $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$, $CdCl_2$, $CdSO_4CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$, $CdCl_2$, and $CdSO_4$, Cu: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4$, and Cu(I), Zn: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ and $ZnCl_2$, Cr: $K_2Cr_2O_7$, $(NH_4)_2CrO_4$, and CrO_3, Sn: $SnCl_2.H_2O$ and Na_2SnO_3).

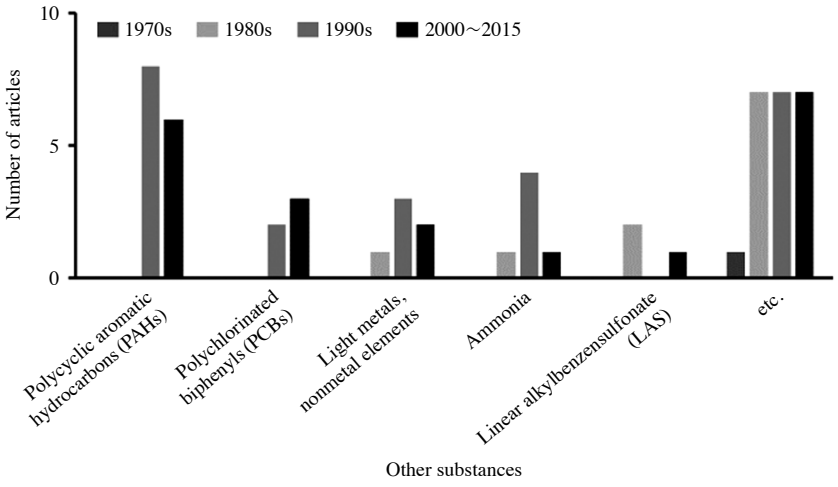

Fig. 3. Number of articles published on other substances at different periods "etc." includes includes chitosan, Trolox, sludge, and others.

성 및 운동성이 각각 2건, 기타 11건이었다. 독성 물질 종류로는 클로르단(Chlordane), 디디티(Dichloro-diphenyl-trichloroethane, DDT), 펜타클로로페놀(NaPCP) 등과 같은 농약이 33건으로 가장 많았으며, 중금속이 11건, 그 외 암모니아, 염화물, 선형 알킬 벤젠 술폰산(LAS) 등 기타 물질이 22건이었다. *L. variegates*를 이용한 독성 연구는 1990년대부터 활발히 진행되었다.

Schubauer-Berigan *et al.* (1993)은 암모니아, 구리, 카드뮴, 니켈, 납, 아연에 대한 치사농도(96h LC50)를 여러 pH 조건 하에서 조사하였다. 그 결과 구리는 낮은 pH에서 독성이 강하며, 니켈은 높은 pH에서 독성이 강하다는 것을 보였다. 즉, 구리는 0.13 mg L^{-1} (pH 6.0~6.5)에서 0.5 mg L^{-1} (pH 8.0~8.5)로 pH가 높아짐에 따라 치사농도가 증가했고, 니켈은 100 mg L^{-1} (pH 6.0~6.5)에서 26 mg L^{-1} (pH 8.0~8.5)로 pH가 높아짐에 따라 더 낮은 농도에서 치사효과를 보였다. Ewell *et al.* (1986)은 구리(0.32 mg L^{-1}), 니켈(32 mg L^{-1}), 펜타클로로페놀(3.2 mg L^{-1}) 및 농약을 포함하는 27가지 물질에 대한 96h LC50를 확인하였다. 그중 아크릴, 암모니아, 벤조산나트륨, 코발트 등의 경우 실험 최대 농도인 100 mg L^{-1}에서 시간 내에 LC50에 도달하지 않았다.

한편, Bailey and Liu (1980)는 48시간, 96시간 독성 실험으로 클로르단(1.4~1.8 mg L^{-1}), 디클로로페녹시 아세트산(122.2 mg L^{-1}), 세빈(8.2~13.0 mg L^{-1}), 말라티온(20.5~

30.9 mg L^{-1}), 트리나이트로톨루엔(8.8~4.9 mg L^{-1}) 등 9가지 농약에 대해서는 정확한 치사농도 값을 측정하였으나, 트리플란(>0.3 mg L^{-1}), 메톡시클로르(>0.2 mg L^{-1}), 디디티(>0.13 mg L^{-1})의 경우에는 실험 최대 농도 이내에서 정확한 값을 얻지 못하였다. 그 이후 Ankley and Collyard (1995)는 5가지 농약에 대한 96h 실험 결과, 다이아지논(6.16 mg L^{-1})과 디클로르보스(2.66 mg L^{-1})는 높은 LC50 값을 보였으나, 안진포스메틸과 클로르피리포스는 실험 농도(2.5 mg L^{-1})에서 LC50 값을 얻지 못하였다. 또한 피페로닐 부톡사이드(3.54 mg L^{-1})와 다이아지논과 디클로르보스을 동시에 투여하여 유기인산 살충제의 독성을 피페로닐 부톡사이드가 효과적으로 저지하는 것을 제시하였다.

독성 물질에 대한 생물의 반응은 물질에 대한 노출 시간 및 노출 농도에 따라 영향을 받으며(Hellawell, 1986), 화학물질의 노출 시간이 증가함에 따라 LC50 값은 감소한다. 예를 들어, 클로르단(유기염소계 농약)은 LC50가 48h 1.8 mg L^{-1}, 96h 1.4 mg L^{-1}, Malathion은 48h 30.9 mg L^{-1}에서 96h 20.5 mg L^{-1}로 감소하였다(Bailey and Liu, 1980). 그러나 카드뮴 96h 노출에서 농도가 0.78 mg L^{-1}이었으나(Schubauer-Berigan *et al*., 1993), 또 다른 연구에서는 LC50가 240h 노출에서 12.1 mg L^{-1} (Phipps *et al*., 1995)로 큰 차이가 있었다. 이는 생물이 독성 물질에 노출되는 조건에 따라 그 영향이 매우 다양하게 나타난다는 것을 보여주는 것으로, 앞선 예에서 실험 조건이 static (Schubauer-Berigan *et al*., 1993)과 flow-through tests (Phipps *et al*., 1995)로 조사될 때 flow-through tests의 LC50가 더 높았다.

고농도의 구리를 처리하는 경우 *L. variegatus*는 치사반응 이전에 초기에 꼬이는 행동이 일반적으로 관찰되며, 후기에는 무기력해지고 촉각자극에 대한 반응성이 저하된다고 보고되었다(O'Gara *et al*., 2004). 또한 몸의 뒤쪽부터 탈색이 진행되며 0.4 M 이상의 농도에서는 3시간 이내에 몸체가 짧아지고 가늘어지는 것이 관찰되었다(O'Gara *et al*., 2004). 농약 중 펜타클로로페놀이 하상에 처리되는 경우 *L. variegatus*는 농도의존적 하상 회피 행동을 보이며, LC50 이전에 부어오름(swelling), 점액분비, 탈색 그리고 분열이 관찰되었다(Nikkilä *et al*., 2003). 암모니아가 하상에 처리되어 spiked-sediment tests가 진행되는 경우 대부분의 *L. variegatus* 개체는 하상에서 나와 하상 표면에 늘어지는 하상 회피 행동을 보였다(Whiteman *et al*., 1996).

2) *Tubifex tubifex*

*T. tubifex*는 총 48편의 문헌에서 실험물질 56종류에 대해 연구되었다(Table 2). *L. variegates*에 비해 연구논문의 수가 적은데도 실험에 사용된 물질은 더 많았다. 이는 몇몇 연구에서 다수의 물질에 대한 독성 실험을 진행했기 때문이다. 대부분의 연구는 실험 관찰 상자 내에 하상이 없이 물만 공급하고 독성 물질을 투여(26편)하였다. 독성 물질 노출에 대한 효과는 1970년대부터 치사를 기록한 것이 가장 많았고, 1980년대부터 2000년 이후에 이르기까지 생물 농축, 생장과 생식에 대한 효과, 운동성에 대한 것이 언급되었다. 실험에 사용된 물질은 중금속(56.25%)이 가장 높은 빈도를 차지하였다.

Khangarot (1991)는 33가지 중금속, 경금속, 비금속에 대해 24h, 48h, 96h EC50를 조사하였다. Fargasova (1994a, b, 1999)는 여러 물질에 대한 24h LC50를 조사한 결과, 독성의 세기가 구리(II) (LC50 0.005 mg L^{-1})>구리(I) (0.021 mg L^{-1})>수은(0.51 mg L^{-1})>망간(0.768 mg L^{-1})>니켈(0.669 mg L^{-1})>카드뮴(3.09 mg L^{-1})>크롬(4.36 mg L^{-1})>납(23.71 mg L^{-1})>비소(398.11 mg L^{-1}) 순서로 나타났다. 또한 여러 유기주석에 대한 96h 독성 실험을 진행하여 유기주석 물질 간에 상대적인 독성의 세기를 비교 평가되었다(Fargasova, 1997; Fargasova, 1998a, b).

Rathore and Khangarot (2002)는 온도 변화에 따라 여러 중금속의 LC50 차이를 조사하였다. 15~30°C에서 96h LC50은 카드뮴 5.91 mg L^{-1}~61.47 mg L^{-1}, 수은 0.014 mg L^{-1}~0.048 mg L^{-1}, 구리 71.26 mg L^{-1}~125.42 mg L^{-1}로, 중금속의 독성은 온도 증가에 따라 증가하였다. 또한 Rathore and Khangarot (2003)는 물의 경도에 따라 중금속의 독성이 달라짐을 보였다. 경도를 4단계로 구분해서 실험한 결과, 카드뮴(96h 0.13 mg L^{-1}~8.50 mg L^{-1}), 수은(96h 0.013 mg L^{-1}~0.066 mg L^{-1}), 구리(96h 0.097 mg L^{-1}~0.615 mg L^{-1}) 모두 물의 경도 증가에 따라 독성이 감소하였다.

Chapman *et al*. (1982b)은 하상이 있는 경우가 없는 경우보다 카드뮴(하상이 없는 경우 96h LC50 0.32 mg L^{-1}, 하상이 있는 경우 3.8 mg L^{-1})과 수은(하상이 없는 경우 0.14 mg L^{-1}, 하상이 있는 경우 1.25 mg L^{-1})에서 모두 LC50가 더 높다는 것을 보였다. 이는 하상이 실험물질을 흡수하여 독성이 감소된다는 것을 제시해 준다.

중금속 중 가장 많은 연구가 수행된 카드뮴은 여러 노출 시간에 따른 독성에 대해 수행되었다(Chapman *et al*., 1982a, b; Chen *et al*., 1994; Fargasova, 1999; Bouché *et al*., 2000; Rathore and Khangarot, 2002; Milani *et al*., 2003; Maestre *et al*., 2009). 그 결과 24h 1.265 mg L^{-1}~99.86 mg L^{-1}, 48h 0.064 mg L^{-1}~99.86 mg L^{-1}, 72h 0.046 mg L^{-1}~77.78 mg L^{-1}, 96h 0.03 mg L^{-1}~61.47 mg L^{-1}로 같은 시간의 연구 결과에서도 변이가 매우 컸다. 이는 카드뮴이 $CdSO_4$를 이용한 결과가 많았으나, $CdCl_2$를 이용하는 경우도 있었고(Khangarot, 1991) 다양한 경도(Rathore and Khangarot,

2003)와 수온에서(Rathore and Khangarot, 2002) 실험되었기 때문인 것으로 보인다.

독성 물질에 대한 치사 반응뿐만 아니라 생리학적 및 행동학적 연구도 일부 진행되었다. 고농도의 구리, 수은, 아연, 납, 카드뮴을 비롯한 중금속을 *T. tubifex* 다개체에 처리하면 노출 초기에 각 개체가 분리되어 존재하고, 빠르게 비트는 움직임(twisting movement)을 보이며 운동성을 잃어서 촉각 반응이 감소된다(Khangarot, 1991; Fargasova, 1999). 구리, 수은, 아연, 카드뮴만을 실험한 경우에도 운동성을 잃어서 노출 후기가 되면 아주 느린 움직임만이 존재하며, 분리된 개체가 헤모글로빈을 잃어서 몸체는 가늘고 길며 옅은 노란색을 띄고, 몸의 붕괴와 손실 발생은 뒤에서 앞으로 진행되는데 96h 노출 이전에는 일어나지 않는다고 보고되었다(Rathore and Khangarot, 2002). 자가절단과 함께 점액 형성(mucus production)도 확인되었다(Rathore and Khangarot, 2003). Khangarot and Rathore (2004)는 구리만을 실험하여 비정상적 움직임, 헤모글로빈의 손실, 몸 붕괴와 길이 감소를 보고하였으며, Bouché *et al*. (2000)는 카드뮴을 처리하였을 때 지렁이 몸 뒷부분의 손실과 개체의 꼬임(wound up)을 보고하였다.

3) *Limnodrilus hoffmeisteri*

*L. hoffmeisteri*는 앞선 두 종에 비해 실험에 사용되는 빈도가 상대적으로 낮았다. 총 17편의 논문은 대체로 80~90년대(64.7%)에 출판되었다(Table 2). 대부분의 연구(11편)가 하상이 없이 물만을 공급하는 노출환경에서 수행되었다. 독성 물질에 보이는 반응은 치사를 기록한 것이 가장 많았고(13편), 1970년대부터 1990년대까지 생물 농축, 생장과 생식에 대한 효과, 운동성에 대한 결과도 제시되었다. 실험에 사용된 물질은 농약이 가장 높은 빈도(47.6%)였다.

Chapman *et al*. (1982b)은 하상이 있을 때 수은(하상이 없는 경우 96h LC50 0.18 mg L^{-1}, 하상이 있는 경우 3.2 mg L^{-1})과 카드뮴(하상이 없는 경우 0.17 mg L^{-1}, 하상이 있는 경우 3.5 mg L^{-1})의 독성이 감소함을 보였다.

그 외에 *T. tubifex*와 *L. variegatus*에 대해서는 독성평가가 되지 않은 농약인 더스번(Dursban) 4E (Wijngaarden *et*

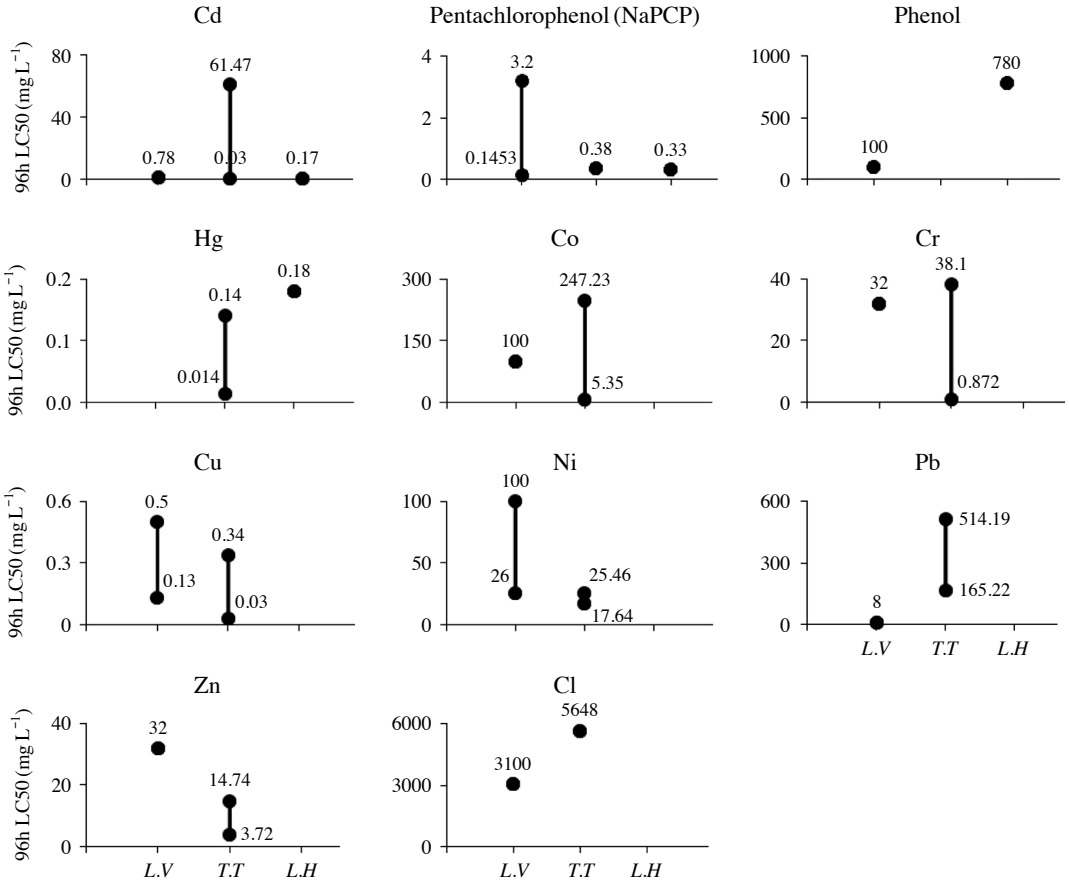

Fig. 4. Comparison of acute lethal toxicity (range) in two or more species based on the literature. T.T: *Tubifex tubifex*, L.V: *Lumbriculus variegates*, and L.H: *Limnodrilus hoffmeisteri*.

al., 1993), 엔드린(Keilty *et al*., 1988), 트리아졸(Liu *et al*., 1996) 등이 *L. hoffmeisteri*에 대해 평가되었지만, 더스번 4E의 경우 실험 농도 내(>0.036 mg L^{-1})에 눈에 띄는 독성 효과가 관찰되지는 않았다. 트리아졸을 노출 시간에 따라 LC50를 비교한 결과, 48h에서 50.8 mg L^{-1}, 72h 42.2 mg L^{-1}, 96h 35.5 mg L^{-1}로 노출 시간이 증가할수록 치사농도가 감소하였다(Liu *et al*., 1996).

3. 두 종 이상의 실험결과가 존재하는 물질의 치사농도 비교

주요 세 종(*L. variegatus*, *T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*)의 독성 물질에 대한 민감도를 조사한 결과 둘 또는 세 종이 같이 실험된 물질들이 있었다. 카드뮴과 펜타클로로페놀(NaPCP)는 세 종 모두에서 96h LC50의 평가가 있었다. 카드뮴은 *L. variegatus* 0.78 mg L^{-1} (Schubauer-Beriga *et al*., 1993), *T. tubifex* 0.03 mg L^{-1}~61.47 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982a, b; Bouché *et al*., 2000; Rathore and Khangarot, 2002; Milani *et al*., 2003; Maestre *et al*., 2009), *L. hoffmeisteri* 0.17 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982b)로 *L. hoffmeisteri*가 *L. variegatus*보다 민감한 반응을 보였으며, *T. tubifex*는 실험 조건에 따라 200배 이상의 큰 변이를 보였다(Fig. 4, Cd). 펜타클로로페놀은 *L. variegatus* 0.145 mg L^{-1}~3.2 mg L^{-1} (Ewell *et al*., 1986; Nikkilä *et al*., 2003), *T. tubifex* 0.38 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982b), *L. hoffmeisteri* 0.33 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982)로 *T. tubifex*와 *L. hoffmeisteri*는 유사한 민감성을 보였으며, *L. variegatus*는 조건에 따라 변이가 컸다(Fig. 4, NaPCP).

두 종의 실험결과가 있는 경우는 조금 더 빈번했다. 대표적으로 수은은 *T. tubifex* 0.014 mg L^{-1}~0.14 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982a, b; Rathore and Khangarot, 2002)와 *L. hoffmeisteri* 0.18 mg L^{-1} (Chapman *et al*., 1982b)였다(Fig. 4, Hg). 그중 Chapman *et al*. (1982b)은 동일 조건에서 *T. tubifex*는 0.14 mg L^{-1}, *L. hoffmeisteri*는 0.18 mg L^{-1}로 보고하여 이들 두 종의 수은에 대한 반응성이 유사하였다. 염소의 경우 *L. variegatus* 3,100 mg L^{-1} (Elphick *et al*., 2011), *T. tubifex* 5,648 mg L^{-1} (Elphick *et al*., 2011)로 같은 조건에서 *T. tubifex*의 내성이 더 강하였다(Fig. 4, Cl).

결론 및 전망

담수 지렁이 종을 이용한 독성 연구들을 확인한 결과, 실험종에 따라 여러 물질에 대한 치사농도와 효과 농도를 비롯한 다양한 비치사농도를 확인할 수 있었다. 독성 물질에 대한 생물의 반응은 노출 시간, 노출 농도, 실험종의 생물학적 조건, 그 외 환경조건(예, pH, 온도, 경도, 하상 구성 등)에 따라 달랐다. 그리고 실험 지렁이 종 사이에 분류학적 유연관계는 높지만 종에 따라 독성 물질에 대한 민감성이 다르기 때문에 같은 물질이라도 치사농도와 비치사농도의 차이가 있었다. 또한 치사 이전에 단순 효과 농도 외에 행동반응도 확인할 수 있었다. 수생 지렁이 종들이 고농도의 중금속에 노출되는 경우 초기에 비트는 움직임을 보인다고 보고되었는데, 이는 LC50 이전에 일어나는 반응이다. 선행 독성 연구들에서 움직임에 대한 효과는 대체로 기술된 것으로 정량화된 정보가 부족한 점이 이후 독성 연구가 진행된다면 보완되어야 할 부분이라고 생각된다. 독성 물질의 효과로 지렁이의 움직임이 변하는 정도를 정량화 한다면 역으로 움직임의 변화로 control에 대한 중금속 유입을 감지할 수 있을 것이다. 일반적으로 수생 지렁이들은 몸의 앞쪽을 하상에 묻은 채로 몸의 뒤쪽은 물 속의 용존산소 포화도를 최대화 하기 위해 움직이는데(Avel, 1959), 몸체 뒤쪽 끝은 종종 오염 물질이 일정 농도 이상으로 존재할 때 하상 속으로 수축된다(Leynen *et al*., 1999). Leynen *et al*. (1999)에서는 오염 물질의 자극에 따라 실지렁이(Tubificidae)가 하상 속으로 수축되는 것을 이용하는 방법으로 수질 모니터링을 위한 조기경보시스템을 제시하였다. 생물의 행동반응은 치사에 비해 저농도에서 감지될 수 있으므로 독성 물질 유입 초기에 감지할 수 있다는 장점을 가진다. 따라서 치사, 효과 농도뿐만 아니라 동물 행동반응 또한 자동으로 인식하는 방법(Son *et al*., 2006; Bae *et al*., 2015) 등을 활용하여 생태계 조기경보시스템, 환경평가 등에 함께 고려할 필요가 있을 것이다.

사 사

이 논문은 2015년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2013R1A1A2009494).

REFERENCES

Allan, J.D. and M.M. Castillo. 2007. Stream ecology: structure and function of running waters. Springer Science and Business Media.

Ankley, G.T. and S.A. Collyard. 1995. Influence of piperonyl butoxide on the toxicity of organophosphate insecticides to three species of freshwater benthic invertebrates. *Com-*

parative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology **110**(2): 149-155.

Aoki, Y. 2001. Polychlorinated biphenyls, polychloronated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters-what we have learned from Yusho disease. *Environmental Research* **86**(1): 2-11.

Avel, M.A.R.C.E.L. 1959. Classe des annélides oligochètes. *Traité de Zoologie* **5**(1): 224-470.

Bae, M.-J., H.-J. Kang and Y.-S. Park. 2015. Development of environmental monitoring system using oligochaetes in aquatic ecosystems. Proceedings of International Conference on Biological, Environment and Food Engineering (BEFE-2015), May 15-16, 2016, Singapore. 1-2.

Bailey, H.C. and D.H.W. Liu. 1980. *Lumbriculus variegates*, a benthic oligochaete, as a bioassay organism. *Aquatic Toxicology*. ASTM International.

Boström, C.E., P. Gerde, A. Hanberg, B. Jernström, C. Johansson, T. Kyrklund, A. Rannug, M. Tornqvist, K. Victorin, and R. Westerholm. 2002. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives* **110**(Suppl 3): 451.

Bouché, M.L., F. Habets, S. Biagianti-Risbourg and G. Vernet. 2000. Toxic effects and bioaccumulation of cadmium in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **46**(3): 246-251.

Brinkhurst, R.O., P. Rodriguez, T.-S. Chon and T.-S. Kwon. 1994. A new genus of Lumbriculidae (Oligochaeta) from Korea. *Canadian Journal of Zoology* **72**(11): 1960-1966.

Butcher, J.T., P.M. Stewart and T.P. Simon. 2003. A benthic community index for streams in the northern lakes and forests ecoregion. *Ecological Indicators* **3**(3): 181-193.

Chapman, P.M. 2001. Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. *In Aquatic Oligochaete Biology* **VIII**: 149-169.

Chapman, P.M., M.A. Farrel and R.O. Brinkhurst. 1982a. Relative tolerances of selected aquatic oligochaetes to combinations of pollutants and environmental factors. *Aquatic Toxicology* **2**(1): 69-78.

Chapman, P.M., M.A. Farrell and R.O. Brinkhurst. 1982b. Relative tolerances of selected aquatic oligochaetes to individual pollutants and environmental factors. *Aquatic Toxicology* **2**(1): 47-67.

Chen, T., A. Furst and P.K. Chien. 1994. The effects of cadmium and iron on catalase activities in *Tubifex*. *International Journal of Toxicology* **13**(2): 112-120.

Choi, Y.H. 2005. The Blood worm (*Limnodrilus socialis's*) Using Capacity for Treatment of Aquaculture Wastewater. Masters Degree Thesis, Chungju University.

Cummins, K.W. 1973. Trophic relations of aquatic insects. *Annual Review of Entomology* **18**: 183-206.

Dermott, R. and M. Munawar. 1992. A simple and sensitive assay for evaluation of sediment toxicity using *Lumbriculus variegatus* (Muller). In Sediment/Water Interactions, 407-414. Springer Netherlands.

Dudgeon, D., A.H. Arthington, M.O. Gessner, Z.I. Kawabata, D.J. Knowler, C. Leveque, R.J. Naiman, A.H. Prieur-Richard, D. Soto and M.L.J. Stiassny. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* **81**: 163-182.

Elissen, H.J.H., W.J. Mulder, T.L.G. Hendrickx, H.W. Elbersen, B. Beelen, H. Temmink and C.J.N. Buisman. 2010. Aquatic worms grown on biosolids: Biomass composition and potential applications. *Bioresource Technology* **101**(2): 804-811.

Elissen, H.J., T.L. Hendrickx, H. Temmink and C.J. Buisman. 2006. A new reactor concept for sludge reduction using aquatic worms. *Water Research* **40**(20): 3713-3718.

Elphick, J.R., K.D. Bergh and H.C. Bailey. 2011. Chronic toxicity of chloride to freshwater species: effects of hardness and implications for water quality guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry* **30**(1): 239-246.

Ewell, W.S., J.W. Gorsuch, R.O. Kringle, K.A. Robillard and R.C. Spiegel. 1986. Simultaneous evaluation of the acute effects of chemicals on seven aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry* **5**(9): 831-840.

Fargasova, A. 1994a. A comparative study of the toxicity and inhibitory effects of inorganic tin compounds on various biological subjects. Biologia. Ser. C. (Slovakia).

Fargasova, A. 1994b. Toxicity of metals on *Daphnia magna* and *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **27**(2): 210-213.

Fargasova, A. 1997. Comparative study of ecotoxicological effect of triorganotin compounds on various biological subjects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **36**(1): 38-42.

Fargasova, A. 1998a. Comparison of effects of tributyl-, triphenyl-, and tribenzyltin compounds on freshwater benthos and alga *Scenedesmus quadricauda*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **60**(1): 9-15.

Fargasova, A. 1998b. Comparison of Tributyltin Compound Effects on the Alga *Scenedesmus quadricaudaand* the Benthic Organisms *Tubifex tubifex* and *Chironomus plumosus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **41**(3): 222-230.

Fargasova, A. 1999. Ecotoxicology of metals related to freshwater benthos. *General Physiology and Biophysics* **18**: 48-53.

Hellawell, J.M. 1986. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. Elsevier, London. 546p.

Ingersoll, C.G., E.L. Brunson, N. Wang, F.J. Dwyer, G.T. Ankley, D.R. Mount, J.N. Huckins, J. Petty and P.F. Landrum. 2003. Uptake and depuration of nonionic organic contaminants from sediment by the oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **22**(3): 872-885.

Jun, T.S. and J.H. Park. 2005. The Blood worm, *Limnodrilus Socialis*'s Using Capacity for Treatment of Aquaculture Wastewater. *Chungju University Theses Collection* **40**(1): 201-206.

Jung, J.W. 2011. Naidid oligochaetes (Annelida: Clitellata) from the Seokhyeoncheon and Changreungcheon Steams with new record of *Nais variabilis*. *Korean Journal of Limnology* **44**(4): 407-410.

Keilty, T.J., D.S. White and P.F. Landrum. 1988. Short-term lethality and sediment avoidance assays with endrin-contaminated sediment and two oligochaetes from Lake Michigan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **17**(1): 95-101.

Khangarot, B.S. 1991. Toxicity of metals to a freshwater tubificid worm, *Tubifex tubifex* (Muller). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **46**(6): 906-912.

Khangarot, B.S. and R.S. Rathore. 2004. Protective action of 24 amino acids on the toxicity of copper to a freshwater tubificid worm *Tubifex tubifex* Muller. *Water, Air, and Soil Pollution* **157**(1-4): 53-63.

Korea Organic Resource Recycling Association. 1994. Resouce Technology for Organic Waste. Dongwha Publishing. pp. 15-54 (in Korean).

Lee, J. and J. Jung. 2014. Four unrecorded species of tubificid oligochaetes (Annelida: Clitellata) in Korea. *Animal Systematics, Evolution and Diversity* **30**(4): 240.

Leynen, M., T. Van den Berckt, J.M. Aerts, B. Castelein, D. Berckmans and F. Ollevier. 1999. The use of Tubificidae in a biological early warning system. *Environmental Pollution* **105**(1): 151-154.

Lin, K.J. and S.P. Yo. 2008. The effect of organic pollution on the abundance and distribution of aquatic oligochaetes in an urban water basin, Taiwan. *Hydrobiologia* **596**(1): 213-223.

Liu, Z.T., Z.M. Kong, F. Zhou and L.S. Wang. 1996. Bioconcentration and toxicity effect on lipid content of aquatic organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **56**(1): 135-142.

Loehr, R.C., J.H. MArtin, E.F. Neuhauser and M.R. Malecki. 1984. Waste management using earthworms, Engineering and scientific relationships. National Science Fundation. Final Report, Project ISP-8016764.

Macedo-Sousa, J., A. Gerhardt, C.M.A. Brett, A. Nogueira and A.M.V.M. Soares. 2008. Behavioural responses of indigenous benthic invertebrates (*Echinogammarus meridionalis*, *Hydropsyche pellucidula* and *Choroterpes picteti*) to a pulse of acid mine drainage: a laboratorial study. *Environmental Pollution* **156**: 966-973.

Maestre, Z., M. Martinez-Madrid and P. Rodriguez. 2009. Monitoring the sensitivity of the oligochaete *Tubifex tubifex* in laboratory cultures using three toxicants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72**(8): 2083-2089.

Milani, D., T.B. Reynoldson, U. Borgmann and J. Kolasa. 2003. The relative sensitivity of four benthic invertebrates to metals in spiked-sediment exposures and application to contaminated field sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry* **22**(4): 845-854.

Nikkilä, A., A. Halme and J.V. Kukkonen. 2003. Toxicokinetics, toxicity and lethal body residues of two chlorophenols in the oligochaete worm, *Lumbriculus variegatus*, in different sediments. *Chemosphere* **51**(1): 35-46.

O'Gara, B.A., V.K. Bohannon, M.W. Teague and M.B. Smeaton. 2004. Copper-induced changes in locomotor behaviors and neuronal physiology of the freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. *Aquatic Toxicology* **69**(1): 51-66.

Park, H.J., T. Timm and Y.J. Bae. 2013. Taxonomy of the Korean freshwater Oligochaeta (Annelida) with eight species new to Korea. *Entomological Research Bulletin* **29**(2): 180-188.

Phipps, G.L., G.T. Ankley and D.A. Benoit. 1993. Use of the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* for assessing the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**: 269-279.

Phipps, G.L., V.R. Mattson and G.T. Ankley. 1995. Relative sensitivity of three freshwater benthic acroinvertebrates to ten contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **28**(3): 281-286.

Postel, S. and S. Carpenter. 1997. Freshwater ecosystem services. Nature's services: Societal dependence on natural ecosystems, 195-214.

Rathore, R.S. and B.S. Khangarot. 2002. Effects of temperature on the sensitivity of sludge worm *Tubifex tubifex* Muller to selected heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **53**(1): 27-36.

Rathore, R.S. and B.S. Khangarot. 2003. Effects of water hardness and metal concentration on a freshwater *Tubifex tubifex* Muller. *Water, Air, and Soil Pollution* **142**(1-4): 341-356.

Reynoldson, T.B., R.H. Norris, V.H. Resh, K.E. Day and D.M. Rosenberg. 1997. The reference condition: a comparison of multimetric and multivariate approaches to assess water-quality impairment using benthic macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society* **16**(4): 833-852.

Ricciardi, A. and J.B. Rasmussen. 1999. Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology* **13**: 1220-1222.

Rosenberg, D.M. and V.H. Resh. 1984. The ecology of aquatic insects. New York. Westport, Connecticut. London.

Schubauer-Berigan, M.K., J.R. Dierkes, P.D. Monson and G.T. Ankley. 1993. pH-Dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**(7): 1261-1266.

Son, K.H., C.W. Ji, Y.M. Park, Y. Cui, H.Z. Wang, T.S. Chon

and E.Y. Cha. 2006. Recurrent Self-Organizing Map implemented to detection of temporal line-movement patterns of *Lumbriculus variegatus* (Oligochaeta: Lumbriculidae) in response to the treatments of heavy metal. *WIT Transaction on Biomedicine and Health* **10**: 77-91.

Stammer, H.A. 1953. The Effect of Hydrogen Sulfide and Ammonia on Characteristic Animal Forms in Saprobiotic System. *Vom Wasser* **20**: 34-71.

Syrovatka, V., J. Schenkova and K. Brabec. 2009. The distribution of chironomid larvae and oligochaetes within a stony-bottomed river stretch: the role of substrate and hydraulic characteristics. *Fundamental and Applied Limnology. Archiv fur Hydrobiologie* **174**(1): 43-62.

US EPA. 2016. Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA) and Federal Facilities. (online) http://www.epa.gov/enforcement/federal-insecticide-fungicide-and-rodenticide-act-fifra-and-federal-facilities (access date June 23 2016).

Whiteman, F.W., M.D. Kahl, D.M. Rau, M.D. Balcer and G.T. Ankley. 1996. Evaluation of interstitial water as a route of exposure for ammonia in sediment tests with benthic macroinvertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**(5): 794-801.

Wijngaarden, R.V., P. Leeuwangh, W.G.H. Lucassen, K. Romijn, R. Ronday, R. Velde and W. Willigenburg. 1993. Acute toxicity of chlorpyrifos to fish, a newt, and aquatic invertebrates. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **51**(5): 716-723.

Yoon, S.M., H.B. Kong and W. Kim. 2000. Freshwater Oligochaetes (Oligochaeta, Tubificida, Naididae) from Several Swamps in Kyungsangnam-do, Korea. *Animal Systematics, Evolution and Diversity* **16**(2): 239-255.